

## ЗАВИСИМОСТЬ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ОТ ОСОБЕННОСТЕЙ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

ЗЕМКО В.Ю.<sup>1</sup>, ОКУЛИЧ В.К.<sup>1</sup>, ДЗЯДЗЬКО А.М.<sup>2</sup>, КОЛЧАНОВА Н.Э.<sup>1</sup>, ГОНЧАРОВА А.И.<sup>1</sup>, КОРНИЛОВ А.В.<sup>1</sup>, КАБАНОВА А.А.<sup>1</sup>, АВЕРЧЕНКОВА А.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, г. Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Цигельбергская женская клиника, г. Ашаффенбург, Германия

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №2. – С. 56-64.

## THE DEPENDENCE OF MICROORGANISMS BIOFILM FORMATION ON THE FEATURES OF THE INFECTIOUS PROCESS

ZIAMKO V.Y.<sup>1</sup>, OKULICH V.K.<sup>1</sup>, DZYADZKO A.M.<sup>2</sup>, KOLCHANOVA N.E.<sup>1</sup>, GONCHAROVA A.I.<sup>1</sup>, KORNILOV A.V.<sup>1</sup>, KABANOVA A.A.<sup>1</sup>, AVERCHANKOVA N.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Ziegelberg Women's Hospital, Aschaffenburg, Germany

Vestnik VGMU. 2021;20(2):56-64.

### Резюме.

Цель исследования – изучить интенсивность формирования микробных биопленок изолятами, выделенными у пациентов, в зависимости от тяжести и локализации инфекционного процесса.

Материал и методы. В проведенное с 2016 по 2020 годы исследование включено 894 клинических изолята от 720 пациентов с инфекционной патологией различной локализации и тяжести. Изучена интенсивность формирования микробных биопленок изолятами, выделенными у данных пациентов, в зависимости от тяжести и локализации инфекционного процесса.

Результаты. Свойство формировать биопленки было выявлено у подавляющего большинства протестированных изолятов (86,6%). При этом максимальной биопленкообразующей способностью обладали изоляты синегнойной палочки, масса микробной биопленки которой была 48,25; 30,1-70,2 мкг/лунку. Проведенные исследования показали зависимость биопленкообразования от тяжести патологии, при которой были выделены изоляты. Выявлена прямая сильная связь между тяжестью заболевания и массой микробной биопленки *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, слабая корреляция – при *Acinetobacter spp.* ( $r=0,73$ ,  $r=0,7$  и  $r=0,35$ ,  $p<0,05$  соответственно).

Заключение. Одним из факторов агрессивности возбудителя и соответственно тяжести инфекционного процесса является интенсивное образование биопленок клиническими изолятами. Более того, проведенное исследование показало зависимость биопленкообразования от тяжести патологии, при которой были выделены изоляты.

Ключевые слова: биопленка, инфекции, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, *E. coli*.

### Abstract.

Objectives. To study the dependence of the formation intensity of microbial biofilms by isolates from patients on the severity and localization of the infectious process.

Material and methods. The study conducted from 2016 to 2020 included 894 clinical isolates from 720 patients with infectious pathology of various localization and severity. The formation intensity of microbial biofilms by isolates received from these patients has been studied, depending on the severity and localization of the infectious process.

Results. The property to form biofilms was found out in the overwhelming majority of tested isolates (86.6%). At the same

time *P. aeruginosa* isolates had the maximum biofilm-forming ability, the weight of the microbial biofilm of which was 48.25; 30.1-70.2 mcg/well. The conducted studies have shown the dependence of biofilm formation on the severity of the disease in which isolates were isolated. A direct close relationship was found between the severity of the disease and the mass of microbial biofilm of *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*, a weak one – in *Acinetobacter spp.* ( $r=0.73$ ,  $r=0.7$  and  $r=0.35$ ,  $p<0.05$  accordingly).

Conclusions. It can be assumed that intensive formation of biofilms by clinical isolates is an important factor of the aggressiveness and severity of the infectious process. Moreover, the conducted study has shown the dependence of biofilm formation on the severity of the disease in which isolates were isolated.

Key words: biofilm, infections, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, *E. coli*.

В настоящее время установлено, что в большинстве случаев возбудители инфекционных заболеваний существуют в форме биопленок [1]. Большинство представителей таксономического домена Bacteria способно формировать биопленки в водоемах, на поверхности почвы, а тем более в организме человека в условиях хронической патологии или в его нормальных биотопах [1, 2]. Биопленкообразование обеспечивает микроорганизмам устойчивую защиту от комплекса агрессивных защитных свойств как окружающей среды, так и макроорганизма, направленных на их устранение или ослабление. В отличие от планктонных культур бактерии имеют ряд особенностей в составе биопленки, таких как обмен генетической информацией, метаболическая кооперация; резистентность к фагоцитозу и химическим веществам [2, 3].

В состав биопленок входят микробные клетки и внеклеточный матрикс, состоящий из полисахаридов, белков и ДНК. Необходимо отметить особую роль внеклеточной ДНК, являющейся важным компонентом внеклеточного матрикса. Она выполняет ряд функций, а именно: роль адгезина во время прикрепления биопленки к субстрату, способствует стабильности матрицы в зрелых биопленках, а также участвует в переносе генетической информации [4].

Матрикс обеспечивает механическую стабилизацию биопленки, позволяя сохранить компактную организацию микроорганизмов в ее составе. В то же время, при сохранении постоянства, биопленке свойственно динамическое изменение, которое осуществляется за счет деятельности микроорганизмов, входящих в ее состав [5, 6].

Биопленкообразование микроорганизмов представляет определенную опасность для практического здравоохранения, затрудняя эффективность проводимой терапии и приводя зачастую к росту заболеваемости, количества летальных ис-

ходов и затрат на лечение. Вышеперечисленное особенно характерно для реанимационно-анестезиологических отделений, так как интенсивное биопленкообразование является причиной возникновения тяжелых нозокомиальных инфекций, включая сепсис и пневмонию. Рост финансовых затрат связан с неэффективностью антибиотикотерапии инфекций, обусловленных биопленкообразующими микроорганизмами. В связи с этим разрабатываются новые подходы к их идентификации и изучению [7].

Цель исследования – изучить интенсивность формирования микробных биопленок изолятами, выделенными у пациентов, в зависимости от тяжести и локализации инфекционного процесса.

## Материал и методы

В исследование, проведенное с 2016 по 2020 годы, включено 894 микроорганизма, выделенных от 720 пациентов с инфекционно-воспалительными заболеваниями. В таблице 1 представлено распределение пациентов по локализации инфекционной патологии и возрасту.

Включенные в исследование группы пациентов по возрасту статистически значимо не различались между собой. В зависимости от тяжести заболевания условно выделили 3 группы пациентов: с легким течением (при амбулаторном лечении), средней степени тяжести (при лечении в соматических отделениях учреждений здравоохранения) и тяжелым течением (при интенсивной терапии в реанимационно-анестезиологическом отделении). В зависимости от триггера [Hegglin, 1969] пневмонию разделили на первичную 81 (39,9%) и вторичную – 122 (60,1%). Распределение пациентов с тяжелой вторичной бактериальной пневмонией в зависимости от нозологии основного заболевания представлено в таблице 2.

Таблица 1 – Характеристика пациентов

Учреждение	Отделение	Группы пациентов	Кол-во пациентов	Возраст, лет сред., М±σ	Кол-во выделен- ных изо- лятов
УЗ «Витеб- ская областная клиническая больница»	Реанимационно-анестезиологическое отделение	Тяжелая бактериальная пневмония	203	55,1 ± 10,3	291
	Торакальное отделение	Острая инфекционная деструкция легких	60	55,1 ± 15,6	77
	Отделение челюстно-лицевой хирургии	Абсцессы и флегмоны челюстно-лицевой области	98	54,8 ± 18,2	114
		Сиаладениты	86	47,3 ± 14,8	70
УЗ «Родильный дом № 3»	Гинекологическое отделение	Бактериальные вагинозы	184	47,8 ± 17,8	215
УО «Витебский государственный медицинский университет»	Амбулаторное лечение на базе кафедры терапевтической стоматологии	Периодонтиты	89	53,4 ± 11,7	127

Таблица 2 – Распределение пациентов с тяжелой вторичной бактериальной пневмонией в зависимости от нозологии основного заболевания

Нозология	Количество пациентов (%)
Черепно-мозговая травма	22 (18,1 %)
Сепсис	6 (4,9 %)
Хроническая обструктивная болезнь легких	5 (4,1 %)
Острое нарушение мозгового кровообращения	21 (17,2 %)
Тяжелая сочетанная травма	10 (8,1 %)
Острое артериальное нарушение кровообращения	3 (2,5 %)
Миастения	2 (1,6 %)
Аневризма	3 (2,5 %)
Острая инфекционная деструкция легких	7 (5,7 %)
Панкреатит	14 (11,5 %)
Желчнокаменная болезнь	3 (2,5 %)
Перитонит	8 (6,6 %)
Инфекции мягких тканей	10 (8,1 %)
Инфекции головного мозга	5 (4,1 %)
Острая кишечная непроходимость	3 (2,5 %)

Среди пациентов с бактериальной пневмонией тяжелого течения 83 (40,9%) находились на управляемой ИВЛ.

Утром натошак у пациентов с периодонтитом забирали содержимое десневой борозды или периодонтального кармана, у пациентов с сиаладенитами – секрет большой слюнной железы, при абсцессах и флегмонах челюстно-лицевой области – раневое отделяемое из гнойного оча-

га, у пациентов с тяжелой бактериальной пневмонией – мокроту и/или трахеобронхиальный аспират, у пациентов с острой инфекционной деструкцией легких – раневое отделяемое и отделяемое из дренажей плевральной полости, с бактериальным вагинозом – отделяемое из влагалища и цервикального канала. Забор биологического материала и выделение чистой культуры проводили согласно инструкции по применению

№ 075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала», утвержденной Министерством Здравоохранения Республики Беларусь 13.03.2010 [7].

Экспериментальная часть исследования проводилась на базе кафедры клинической микробиологии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета. Интенсивность биопленкообразования определяли по разработанному ранее методу с применением генцианвиолета [9]. Существенная особенность, простота в исполнении и высокая эффективность метода позволили выявить способность микроорганизмов формировать биопленку на стенках и дне лунок полистиролового планшета. Среднее значение массы биопленки рассчитывали по оптической плотности раствора. В таблице 3 представлены критерии распределения интенсивности биопленкообразования микроорганизмами в зависимости от массы экзополимерного матрикса [9].

Авторами представлены убедительные доказательства инвазивности патогенов на базе точного определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки с использованием красителя 4'-диамино-2-фенилиндол дигидрохлорида по разработанной методике, что позволяет оптимально скорректировать интенсивную терапию [10].

Статистика. Для статистического анализа данных использовали непараметрические методы статистики с указанием медианы (Me), нижнего 25-го (LQ) и верхнего 75-го квартилей (UQ). Для оценки взаимосвязи интенсивности биопленкообразования микроорганизмами и тяжестью инфекционного процесса применяли корреляционный анализ Спирмена. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$  [11].

## Результаты

В структуре инфекций в реанимационно-анестезиологическом отделении (РАО) преоб-

ладала грамотрицательная флора, представленная в основном *A. baumannii* – 103 (35,4%), *K. pneumoniae* – 100 изолятов (34,4%), *P. aeruginosa* – 52 (17,9%), *E. coli* – 3 (1,0%) изолята, встречающаяся в 7,2 раза чаще грамположительных микроорганизмов, а именно *S. aureus* – 25 (8,6%) и *Streptococcus spp.* – 8 (2,7%). По результатам исследования состав изолятов, выделенных при острой инфекционной деструкции легких, также в более чем в половине (81,8%) случаев был представлен грамотрицательными микроорганизмами: *P. aeruginosa* – 50 (64,9%), *K. pneumoniae* – 10 изолятов (13,0%), *A. baumannii* – 3 (3,9%), *S. aureus* – 14 (18,2%). Однако, если в РАО преобладал род ацинетобактер, то при хирургической инфекции превалировала синегнойная палочка. Анализ полученных результатов показал, что в составе микрофлоры при бактериальном вагинозе, наоборот, преобладала грамположительная флора, которая встречалась в 1,3 раза чаще грамотрицательной, и была представлена *Streptococcus spp.* – 122 (56,7%) и *S. aureus* – 1 (1,0%) изолят, за которыми следовали *E. coli* 66 – (30,7%) и *K. pneumoniae* – 25 (11,6%) изолятов. При сиалденитах также преобладала грамположительная флора: было идентифицировано 23 представителя *Staphylococcus spp.* (32,9%) и 37 изолятов *Streptococcus spp.* (52,9%). Также были выявлены микроорганизмы рода *Candida* и *Actinomyces* – по 5 изолятов (7,1%), микроорганизмы рода *Gemella* – 3 изолята (4,3%). Представители семейства *Enterobacteriaceae* были идентифицированы в 2,9% случаев (2 изолята). В составе микрофлоры при периодонтитах получен 121 изолят, принадлежащий роду *Streptococcus* (95,3%), по 3 представителя рода *Staphylococcus spp.* (2,4%), и *Candida spp.* (2,4%). При тяжелых одонтогенных инфекциях (флегмонах и абсцессах челюстно-лицевой области) также в 3,8 раза чаще выделялись грамположительные микроорганизмы, а именно *Staphylococcus spp.* – 85 (74,5%), *Streptococcus spp.* – 5 (4,4%). Среди грамотрицательных микроорганизмов преобладала синегнойная палочка,

Таблица 3 – Критерии распределения интенсивности биопленкообразования микроорганизмами в зависимости от массы экзополимерного матрикса

Степень интенсивности биопленкообразования	Масса биопленки, мкг/лунку
0	0
1	от 0 до 9,4
2	от 9,4 до 28
3	более 28

составившая 20 (17,5%) изолятов, за которой следовали клебсиелла и кишечная палочка, составившие по 2 изолята (1,8%). Распределение выделенных микроорганизмов по нозологиям представлено в таблице 4.

При анализе распределения выделенных микроорганизмов по нозологиям при тяжелых бактериальных пневмониях наиболее часто выделяли из мокроты и трахеобронхиального аспирата представителей рода ацинетобактер (97,2% случаев,  $p < 0,01$ ). Основным возбудителем бактериальных вагинозов стала кишечная палочка (93,0%,  $p < 0,01$ ). При абсцессах и флегмонах челюстно-лицевой области чаще всего встречался золотистый стафилококк (56,3%,  $p < 0,05$ ).

Свойство формировать биопленки было выявлено у подавляющего большинства протестированных изолятов (86,6%). Результаты интенсивности образования биопленки микроорганизмами, выделенными у пациентов с инфекционной патологией различной локализации и степени тяжести, представлены в таблице 5.

При исследовании биопленок, образованных изолятами синегнойной палочки, выделенными от пациентов, находящихся на лечении в РАО, обнаружено значительное преобладание (в 2,7 раза;  $p = 0,00001$ ), массы микробной биопленки (48,25; 30,1-70,2 мкг/лунку) по сравнению с

микроорганизмами, выделенными при хирургической патологии (18,1; 13,9-30,6 мкг/лунку). Более низкая (в 2,4 раза;  $p = 0,0065$ ) по сравнению с бактериями, выделенными от пациентов, находящихся в РАО, масса образованной микробной биопленки обнаружена также при исследовании микроорганизмов, полученных от пациентов с гинекологической патологией (20; 17,5-23,9 мкг/лунку) и тяжелой одонтогенной инфекцией (35,7; 26,4-36,7 мкг/лунку) – в 1,4 раза ( $p = 0,0053$ ). Изоляты *Acinetobacter spp.* были выделены только в РАО и в торакальном отделении, где находились на лечении пациенты с пневмонией и острой инфекционной деструкцией легких. При анализе интенсивности биопленкообразования бактериями рода *Acinetobacter* изоляты, выделенные в РАО, имели наибольшую массу созданной ими микробной биопленки (46,87; 36,8-65,3 мкг/лунку), в 3,1 раза больше массы биопленки, образуемой изолятами этого вида, выделенными в отделении торакальной хирургии (15,1; 13,3-24,0 мкг/лунку,  $p = 0,0001$ ). Максимальную интенсивность пленкообразования также имели изоляты *K. pneumoniae*, выделенные в РАО, масса микробной биопленки которых составила 41,0; 31,79-64,94 мкг/лунку,  $p = 0,0001$ . Та же тенденция выявлена и среди *Staphylococcus spp.*, максимальный вес образованной ими микробной биопленки

Таблица 4 – Распределение выделенных микроорганизмов по нозологиям

Микроорганизм	<i>Acinetobacter spp.</i> (n=106)	<i>K.pneumoniae</i> (n=139)	<i>P. aeruginosa</i> (n=122)	<i>E. coli</i> (n=71)	<i>S. aureus</i> (n=151)	<i>Streptococcus spp.</i> (n=293)
Нозология						
Тяжелая бактериальная пневмония (n=291)	103 (97,2%)	100 (71,9%)	52 (42,6%)	3 (4,2%)	25 (16,6%)	8 (2,7%)
Острая инфекционная деструкция легких (n=77)	3 (2,8%)	10 (9,2%)	50 (41,0%)	0 (0%)	14 (9,3%)	0 (0%)
Абсцессы и флегмоны челюстно-лицевой области (n=114)	0 (0%)	2 (1,4%)	20 (16,4%)	2 (2,8%)	85 (56,3%)	5 (1,7%)
Сиаладениты (n=70)	0 (0%)	0	0 (0%)	0 (0%)	23 (15,2%)	37 (12,6%)
Бактериальные вагинозы (n=215)	0 (0%)	25 (16,1%)	0 (0%)	66 (93,0%)	1 (0,7%)	122 (41,6%)
Периодонтиты (n=127)	0 (0%)	2 (1,4%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (1,9%)	121 (41,4%)

Таблица 5 – Масса микробных биопленок изолятов, выделенных при инфекционной патологии различной локализации, мкг/лунку (Ме; LQ-UQ)

Нозология	Тяжелая бактериальная пневмония, N=291	Острая инфекционная деструкция легких, N=77	Абсцессы и флегмоны челюстно-лицевой области, N=114	Бактериальные вагинозы, N=215	Сиаладенит, N=70	Периодонтит, N=127
Микроорганизм						
<i>P. aeruginosa</i> (n=122)	48,25; 30,1-70,2	18,1; 13,9-30,6	35,7; 26,4-36,7	20; 17,5-23,9	-	-
<i>Acinetobacter spp.</i> (n=106)	46,87; 36,8-65,3	15,1; 13,3-24,0	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> (n=139)	41,0; 31,79-64,94	15,7; 13,0-16,7	29,1; 28,1-29,9	0,7; 0-13,8	-	-
<i>S. aureus</i> (n=151)	47,5; 35,37-70,98	15,5; 12,7-16,4	13,6; 6,3-18,4	2,17; 0-6,8	24,45; 20,27-49,29	-
<i>S. epidermidis</i> (n=8)	-	-	7,61; 1,54-12,8	-	16,65; 14,48-23,95	-
<i>Streptococcus spp.</i> (n=293)	6,63; 0,24-19,26	-	16,8; 16,7-18,4	4,09; 0,07-12,1	17,9; 14,0-30,0	6,21; 0,12-18,67
<i>E. coli</i> (n=69)	0,5; 0-3,6	-	2,75; 0,4-7,9	0,14; 0-1,9	-	-
<i>Gemella spp.</i> (n=3)	-	-	-	-	8,14; 7,99-10,82	-
<i>E. cloacae</i> (n=3)	-	-	-	-	9,67; 9,1-10,24	-

Примечание: прочерком обозначены случаи, когда вид микроорганизмов не был выделен при патологии.

составил 47,5; 35,37-70,98 мкг/лунку у пациентов с тяжелой патологией в РАО ( $p < 0,0001$ ). Для *Streptococcus spp.* и *E. coli*, выделенных у пациентов с хроническим периодонтитом и с бактериальным вагинозом, а также при сравнении с изолятами, выделенными в РАО, статистически значимых отличий в интенсивности биопленкообразования не выявлено ( $p = 0,06$ ). Максимальная масса биопленки, образованная стрептококками, отмечена у пациентов с сиаладенитами (17,9; 14,0-30,0 мкг/лунку), а также абсцессами и флегмонами челюстно-лицевой области (16,8; 16,7-18,4 мкг/лунку), однако между собой вышеупомянутые группы изолятов не имели статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ).

В то же время при сиаладенитах наиболее интенсивно формировали микробную пленку золотистый и эпидермальный стафилококки (24,45; 20,27-49,29 мкг/лунку и 16,65; 14,48-23,95 мкг/лунку соответственно,  $p < 0,01$ ).

Следует отметить, что для микроорганизмов, выделенных у пациентов с хроническим периодонтитом, была характерна более низкая

способность к биопленкообразованию. При детальном изучении показателей внутри группы установлено, что формирование биопленки напрямую зависит от тяжести патологии. Так, масса микробной биопленки стрептококков при хронических периодонтитах тяжелого течения составила 3,83; 0,0-5,57 мкг/лунку, средней степени тяжести – 8,85; 5,7-19,26 мкг/лунку, легкого течения – 22,94; 15,2-40,06 мкг/лунку,  $p < 0,001$ .

Проведенные исследования показали зависимость способности биопленкообразования для отдельных микроорганизмов от тяжести заболевания, при котором были выделены изоляты. Так, выявлена прямая сильная связь между тяжестью заболевания и массой микробной биопленки, образуемой *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, слабая корреляция – для ацинетобактера ( $r = 0,73$ ,  $r = 0,7$  и  $r = 0,35$ ,  $p < 0,05$ , соответственно).

Процентное содержание ДНК в образуемой микроорганизмами биопленке не показало достоверных различий между наиболее частыми возбудителями периодонтитов (*Streptococcus spp.*) и возбудителями тяжелых пневмоний, а именно

*P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp, *K. pneumoniae* и *S. aureus*, составив 3,16; 1,82-3,42% и 4,98; 1,85-5,67%, соответственно,  $p > 0,1$ .

Проведенные исследования выявили высокую концентрацию ДНК в составе биопленки, образуемой синегнойной палочкой, выделенной от пациентов с тяжелой бактериальной пневмонией (5,21; 2,17-7,67%,  $p = 0,04$ ). Другие бактерии, выделенные при данной патологии, имели несущественные колебания концентрации ДНК внутри группы ( $p = 0,04$ ).

## Обсуждение

Настоящее исследование подтвердило, что подавляющее большинство микроорганизмов (86,6%) образует биопленки [12]. Масса микробной биопленки синегнойной палочки в 4,1 раза превосходила таковую, полученную рядом авторов при изучении микрофлоры раневой инфекции ( $p < 0,05$ ) [9]. Синегнойная палочка убедительно более активно формирует биопленку, чем золотистый и эпидермальный стафилококки [13]. В то же время более тщательный анализ показывает эту закономерность чаще в пределах одной нозологии. Учитывая совершенно различную этиологическую структуру инфекций, изученных в данной статье, наблюдались и другие закономерности, например, при одонтогенных инфекциях золотистый стафилококк обладал наибольшей способностью формировать биопленку. Вместе с тем ряд авторов указывает, что среди изолятов, выделяемых при челюстно-лицевой патологии, активнее образует биопленку эпидермальный стафилококк, что требует дальнейшего изучения [14].

## Заключение

Среди изученных возбудителей инфекций наиболее интенсивно формировали биопленку изоляты, выделенные у пациентов с тяжелой бактериальной пневмонией в РАО, а именно клинические изоляты *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp, *K. pneumoniae* и *S. aureus*.

Исследование показало зависимость интенсивности биопленкообразования от тяжести заболевания, при котором были выделены изоляты в виде сильной связи между тяжестью заболевания и массой микробной биопленки *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* ( $r = 0,73$ ,  $r = 0,7$ ,  $p < 0,05$  соответственно).

Максимальную концентрацию ДНК в со-

ставе биопленки имела синегнойная палочка, выделенная от пациентов с тяжелой бактериальной пневмонией (5,21; 2,17-7,67%,  $p = 0,04$ ).

Эта потенциальная способность биопленкообразования клиническими изолятами и их способность интенсивно образовывать ДНК в составе биопленки являются важным фактором агрессивности возбудителей и тяжести вызываемых ими инфекционных заболеваний.

## Литература

1. Biofilms: an emergent form of bacterial life / H. C. Flemming [et al.] // Nat. Rev. Microbiol. – 2016 Aug. – Vol. 14, N 9. – P. 563–575.
2. Maurice, N. M. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Host Response and Clinical Implications in Lung Infections / N. M. Maurice, B. Bedi, R. T. Sadikot // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2018 Apr. – Vol. 58, N 4. – P. 428–439.
3. Standard versus biofilm antimicrobial susceptibility testing to guide antibiotic therapy in cystic fibrosis / S. Smith [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2020 Jun. – Vol. 6, N 6. – CD009528.
4. Quorum-sensing and cheating in bacterial biofilms / R. Popat [et al.] // Proc. Biol. Sci. – 2012 Dec. – Vol. 279, N 1748. – P. 4765–4771.
5. Potential Role of Biofilm Formation in the Development of Digestive Tract Cancer With Special Reference to *Helicobacter pylori* Infection / C. Rizzato [et al.] // Front. Microbiol. – 2019 Apr. – Vol. 10. – P. 846.
6. Kostakioti, M. Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era / M. Kostakioti, M. Hadjifrangiskou, S. J. Hultgren / Cold. Spring Harb. Perspect. Med. – 2013 Apr. – Vol. 3, N 4. – a010306.
7. Eradication of *P. aeruginosa* biofilm in endotracheal tubes based on lock therapy: results from an in vitro study / M. J. Pérez-Granda [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2017 Dec. – Vol. 17, N 1. – P. 746.
8. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, 13 марта 2010 г. / Н. Д. Коломиец [и др.]. – Минск, 2010. – 124 с.
9. Окулич, В. К. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии / В. К. Окулич, А. А. Кабанова, Ф. В. Плотников. – Витебск : ВГМУ, 2017. – 300 с.
10. Способ определения процентного содержания ДНК в составе микробной биопленки : пат. Респ. Беларусь : МКП С 12Q 1/6809, G 01N 21/64 / Окулич В. К., Колчанова Н. Э., Корнилов А. В., Земко В. Ю., заявитель и патентообладатель Витебский гос. мед. ун-т. – № а 20160477 ; заявл. 18.06.18 ; опубл. 02.07.20, Афіц. бюл. № 6. – С. 96.
11. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – Москва : Медиа Сфера, 2006. – 312 с.
12. Лагун, Л. В. Бактериальные биопленки и их роль в развитии инфекций мочевыводящих путей / Л. В. Лагун, С.

- В. Жаворонок // Мед. журн. – 2013. – № 4. – С. 21–27.
13. Fey, P. D. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* / P. D. Fey, M. E. Olson // *Future Microbiol.* – 2010 Jan. – Vol. 5, N 6. – P. 917–933.
  14. Влияние способности микроорганизмов формировать

биоплёнку на их чувствительность к антибактериальным препаратам / Ф. В. Плотников [и др.] // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2014. – № 2. – С. 52–60.

Поступила 28.12.2020 г.

Принята в печать 15.04.2021 г.

## References

1. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol.* 2016 Aug;14(9):563-75. doi: 10.1038/nrmicro.2016.94
2. Maurice NM, Bedi B, Sadikot RT. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms: Host Response and Clinical Implications in Lung Infections. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2018 Apr;58(4):428-439. doi: 10.1165/rcmb.2017-0321TR
3. Smith S, Waters V, Jahnke N, Ratjen F. Standard versus biofilm antimicrobial susceptibility testing to guide antibiotic therapy in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Jun;6(6):CD009528. doi: 10.1002/14651858.CD009528
4. Papat R, Crusz SA, Messina M, Williams P, West SA, Diggle SP. Quorum-sensing and cheating in bacterial biofilms. *Proc Biol Sci.* 2012 Dec;279(1748):4765-71. doi: 10.1098/rspb.2012.1976
5. Rizzato C, Torres J, Kasamatsu E, Camorlinga-Ponce M, Bravo MM, Canzian F, et al. Potential Role of Biofilm Formation in the Development of Digestive Tract Cancer With Special Reference to *Helicobacter pylori* Infection. *Front Microbiol.* 2019 Apr;10:846. doi: 10.3389/fmicb.2019.00846
6. Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren SJ. Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013 Apr;3(4):a010306. doi: 10.1101/cshperspect.a010306
7. Pérez-Granda MJ, Latorre MC, Alonso B, Hortal J, Samaniego R, Bouza E, et al. Eradication of *P. aeruginosa* biofilm in endotracheal tubes based on lock therapy: results from an in vitro study. *BMC Infect Dis.* 2017 Dec;17(1):746. doi: 10.1186/s12879-017-2856-0
8. Kolomietc ND, Tonko OV, Serookaia TI, Mareiko AM, Litunovskaia LG. Microbiological methods of research of biological material: instruksiia po primeneniiu № 075-0210: utv M-vom zdavookhraneniia Resp Belarus', 13 marta 2010 g. Minsk., RB; 2010. 124 p. (In Russ.)
9. Okulich VK, Kabanova AA, Plotnikov FV. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibacterial therapy. Vitebsk, RB: VGMU; 2017. 300 p. (In Russ.)
10. Okulich VK, Kolchanova NE, Kornilov AV, Zemko VIu; zaiavitel' i patentoobladatel' Vitebskii gos med un-t. A method for determining the percentage of DNA in the composition of microbial biofilm: pat Resp. Belarus': MKP C 12Q 1/6809, G 01N 21/64. № a 20160477; zaiavl 18.06.18; opubl 02.07.20, Afits biul № 6. P. 96. (In Russ.)
11. Rebrova OIu. Statistical analysis of medical data. Application Package of Application Programs Statistica. Moscow, RF: Media Sfera; 2006. 312 p. (In Russ.)
12. Lagun LV, Zhavoronok SV. Bacterial biofilms and their role in the development of urinary tract infections. *Med Zhurn.* 2013;(4):21-7. (In Russ.)
13. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol.* 2010 Jun;5(6):917-33. doi: 10.2217/fmb.10.56
14. Plotnikov FV, Okulich VK, Kabanova AA, Shilin VE. The influence of the ability of microorganisms to form a bioflighter on their sensitivity to antibacterial drugs. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya.* 2014;(2):52-60. (In Russ.)

Submitted 28.12.2020

Accepted 15.04.2021

## Сведения об авторах:

Земко В.Ю. – к.м.н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6753-2074>;

Окулич В.К. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>;

Дзядзько А.М. – д.м.н., заведующий отделом анестезиологии и реанимации, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1965-1850>;

Колчанова Н.Э. – к.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3071-1001>;

Гончарова А.И. – к.м.н., доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>;

Корнилов А.В. – ассистент кафедры госпитальной хирургии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет,



ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8709-6639>;

Кабанова А.А. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0121-1139>;

Аверченкова А.А. – врач-акушер-гинеколог Цигельбергской женской клиники, г. Ашаффенбург, Германия.

**Information about authors:**

*Ziamko V.Y. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Anesthesiology and Resuscitation with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6753-2074>;*

*Okulich V.K. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>;*

*Dzyadzko A.M. – Doctor of Medical Sciences, head of the Department of Anesthesiology and Resuscitation, Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1965-1850>;*

*Kolchanova N.E. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Restorative Dentistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3071-1001>;*

*Goncharova A.I. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Maxillofacial Surgery & Operative Dentistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>;*

*Kornilov A.V. – lecturer of the Chair of Hospital Surgery with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8709-6639>;*

*Kabanava A.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Maxillofacial Surgery & Operative Dentistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0121-1139>;*

*Averchankava N.A. – obstetrician-gynecologist in Ziegelberg Women's Hospital, Aschaffenburg, Germany.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК. E-mail: [torinet@tut.by](mailto:torinet@tut.by) – Земко Виктория Юрьевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Anesthesiology and Resuscitation with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: [torinet@tut.by](mailto:torinet@tut.by) – Viktoriya Y. Ziamko.